Journal of Water and Soil
Vol. 35, No. 1, March-April 2021, p. 1-18

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۴۰۰، ص. ۱۸-۱

مقاله پژوهشی

پاسخ گیاه شبدر به تلقیح باکتری *ریزوبیوم تریفولی* و قارچ‌های آربسکولار میکوریز در خاک‌های آلوده به کادمیم

لیلا قاسمی فر[1]- احمد گلچین[2*]- فاطمه رخش[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۲۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۰۹

چکیده

به‌منظور بررسی پاسخ گیاه شبدر برسیم به تلقیح باکتری *ریزوبیوم تریفولی* و قارچ‌های آربسکولار میکوریز در خاک‌های آلوده به کـادمیم، آزمایشـی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل سطوح مختلف آلودگی خاک به کادمیم (صفر، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و تلقیح با میکروارگانیسم شامل قـارچ‌هـای آربسـکولار میکـوریز گونـه‌هـای *گلومـوس موسـه‌آ* و *گلومـوس اینترارادیسز* و باکتری *ریزوبیوم تریفولی* بودند. نتایج آزمایش نشان داد که تأثیر کادمیم بر وزن تر بخش هوایی و ریشه و غلظـت آهـن، روی و کـادمیم بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر برسیم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. با افزایش غلظت کادمیم در خـاک، وزن تـر بخـش هـوایی و ریشـه و غلظت آهن و روی کاهش یافتند؛ اما بیشترین غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه و جذب کادمیم زیست‌توده گیاه مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک بود. همچنین نتایج نشان داد که تأثیر تلقیح با قارچ‌های آربسکولار میکوریز و باکتری *ریزوبیوم تریفولی* بر صفات اندازه‌گیـری شـده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. بیشترین وزن تر بخش هوایی و ریشه و غلظت عناصر کم‌مصرف نیز در اثر تلقیح مشترک قارچ میکـوریز *گلومـوس موسه‌آ* و باکتری *ریزوبیوم تریفولی* (MT) مشاهده شدند. با توجه به نتایج اثرات متقابل آزمایش می‌توان بیـان کـرد کـه، بـا افـزایش کـادمیم در خـاک عملکرد گیاه شبدر کاهش یافت ولی استفاده از تلقیح مشترک قارچ میکوریز *گلوموس موسه‌آ* و باکتری *ریزوبیوم تریفولی* (MT) موجـب بهبـود و حفـظ عملکرد گیاه شبدر در خاک‌های آلوده به کادمیم شد. در نتیجه برای کشت شبدر در خاک‌های آلوده به کادمیم می‌توان از این تلقیح مشترک (MT) برای بهبود عملکرد استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی، *گلوموس موسه‌آ*، *گلوموس اینترارادیسز*، فلز سنگین، میکروارگانیسم

مقدمه

رشـد سـریع فعالیـت‌هـای انسـانی موجـب انتشـار آلاینـده‌هـای زیست‌محیطی در سراسر جهان شـده اسـت. فلـزات سـنگین ازجملـه آلاینده‌های غیرزیستی هستند که از مسیرهای مختلفی مانند فرسایش و هوازدگی سنگ مادری، فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی، دود اگـزوز خودروها، فاضلاب و نشست‌های جـوی وارد اکوسیسـتم‌هـای آبـی و خشکی می‌شوند (۳۴). فلزات سنگین به‌دلیل سمیت، مقاومت در برابر تجزیه و قابلیت تجمع زیستی تهدید جـدی بـرای سـلامت انسـان و سیسـتم‌هـای اکولـوژیکی محسـوب مـی‌شـوند. فلـزات سـنگین در فرایندهای طبیعی تجزیه و تخریب نمی‌شوند، بنابراین تمایل به تجمع در رسوبات یا بدن موجودات زنده را دارند. غلظـت فلـزات سـنگین در خاک در درجه اول به نوع و ترکیب شیمیایی ماده مادری که از آن به وجود می‌آید بستگی دارد؛ اما سایر منابع ورودی از قبیل فعالیـت‌هـای انسانی نیز منجر به افزایش غلظت این عناصر در خاک می‌شود (۲۵). تحقیقات محققان مختلف حاکی از آن است که دود اگـزوز خودروهـا، سایش لاستیک وسایل نقلیه، زباله‌هـای شـهری و دود کارخانـه‌هـا و فعالیت‌های معدن‌کاوی مهم‌ترین منـابع احتمـالی آلـودگی خـاک بـه فلزات سنگین محسوب می‌شوند (۲۱ و ۲۸). در میان فلزات سـنگین، کادمیم دارای اهمیت ویژه‌ای است، زیـرا ریشـه اغلـب گیاهـان آن را جذب می‌نمایند. سمیت کادمیم برای گیاهان تا ۲۰ برابر سـایر فلـزات سنگین مـی‌باشـد (۲۳). کـادمیم بـه سـهولت توسـط گیاهـان جـذب می‌شود، اما حساسیت گیاهان مختلف بـه غلظـت بـالای آن متفـاوت است (۱۲). اگرچه کادمیم یـک عنصـر غیرضـروری در فعالیـت‌هـای متـابولیکی گیاهـان اسـت، امـا ایـن عنصـر بـه‌صـورت یـون توسـط سیسـتم‌هـای ریشـه‌ای و برگـی جـذب گیـاه مـی‌گـردد و بـه‌مقـدار قابل‌ملاحظه‌ای در بافت‌های موجودات زنـده ذخیـره مـی‌گـردد. بـین کادمیم بافت‌های گیاهی و کادمیم موجود در محـیط رشـد گیـاه یـک رابطه خطی وجود دارد. با این وجود عوامل متعددی در خـاک و گیـاه بر جذب کادمیم توسط گیاه اثر مـی‌گذارنـد. ازجملـه ایـن پـارامترهـا

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانـش آموختـه دکتـری گروه علوم خاک، دانشگاه زنجان
(*- نویسنده مسئول: Email: agolchin2011@yahoo.com)
DOI: 10.22067/jsw.2021.14772.0

می‌توان به ترشحات ریشه‌ای برای کلات کردن فلز، غلظت فلز، pH خاک، مقدار ماده آلی خاک، بافت خاک، جرم مخصوص ظاهری، مقدار رطوبت و غلظت سایر عناصر محلول اشاره کرد (۱۹).

باکتری‌های محرک رشد در پالایش و تصفیه آلودگی‌های ریزوسفر نقش دارند (۲۲). استفاده از ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه به‌منظور پالایش زیستی و یا بهبود کارایی سایر روش‌های زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به فلزات سنگین، دستاوردهای شگرفی از قبیل سازگاری با محیط‌زیست، هزینه اندک در مقایسه با روش‌های فیزیکی و شیمیایی پالایش خاک‌های آلوده به فلز، بهبود حاصلخیزی خاک، افزایش تنوع زیستی و غیره را به‌دنبال داشته است. ریزوباکتری‌های محرک رشد به دلیل متحمل بودن نسبت به فلزات سنگین قادر به جذب آلاینده‌های فلزی و همچنین احیای فلزات به فرم‌هایی با سمیت کم‌تر می‌باشند و بدین طریق موجب پالایش یا تثبیت آن‌ها می‌شوند. علاوه بر این ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق مکانیسم‌های مختلفی نظیر تثبیت نیتروژن اتمسفری، انحلال فسفات، ترشح سیدروفورهای کلات کننده آهن، تولید هورمون‌های محرک رشد مانند اکسین و جیبرلین و جلوگیری از سنتز بیش‌ازحد اتیلن به‌واسطه تولید آنزیم ACC–دآمیناز، می‌توانند رشد گیاه را در خاک‌های آلوده به فلزات سنگین بهبود بخشیده و بدین ترتیب سبب افزایش کارایی فرآیند گیاه‌پالایی شوند (۲۹). استفاده از قارچ‌های میکوریز یکی از روش‌های بیولوژیکی پالایش خاک‌های آلوده به فلزات سنگین می‌باشد (۲). قارچ‌های میکوریز آربسکولار باعث افزایش رشد گیاه و کاهش جذب فلزات سنگین در خاک‌های آلوده به این فلزات، توسط گیاه می‌گردد. در واقع این قارچ‌ها به دلیل تجمع فلزات سنگین در هیف‌ها و میسیلیوم‌های خود باعث کاهش فرم قابل‌جذب این عناصر در ریزوسفر گیاه می‌شوند که این امر منجر به کاهش جذب فلزات سنگین توسط گیاه می‌گردد (۱۴).

قارچ‌های میکوریز آربسکولار تحمل گیاهان به آلودگی عناصر سنگین افزایش می‌دهند و مکانیسم اصلی افزایش تحمل گیاه، اتصال هیف قارچ به فلزات سنگین در ریزوسفر گیاه می‌باشد (۴۵). فلزات سنگین در داخل یا نزدیک ریشه گیاه غیرمتحرک شده و انتقال آن‌ها به ساقه کاهش می‌یابد (۴۱). در سراسر جهان تحقیقات متعددی بر روی آلودگی خاک‌ها و گیاهان به فلزات سنگین به‌ویژه از طریق آبیاری با فاضلاب‌های شهری و صنعتی و یا مصرف لجن فاضلاب در مزارع انجام گرفته است. سیستم‌های زیست‌محیطی ظرفیت محدودی برای جذب آلاینده‌های ورودی دارند و اگر تجمع مداوم آلاینده‌ها صورت گیرد توانایی خاک به‌عنوان محیط پذیرنده کاهش یافته یا به‌طورکلی از بین می‌رود. انتقال این عناصر از خاک به محصولات کشاورزی و دامی سبب ورود این عناصر به چرخه غذایی انسان و دام می‌گردد. امروزه برای حل معضل اثرات سمی فلزات سنگین در خاک از روش‌های بیولوژیک مانند گیاه‌پالایی و همزیستی ریشه گیاهان با ریزجانداران، استفاده می‌کنند که در کشور ما در این زمینه تحقیقات ناچیزی صورت گرفته است. در همین راستا و با توجه به نقش سودمند میکروارگانیسم‌ها در رشد و نمو گیاه و کاهش تنش‌های محیطی، این تحقیق به‌منظور بررسی پاسخ گیاه شبدر برسیم به تلقیح باکتری *ریزوبیوم تریفولی* و قارچ‌های آربسکولار میکوریز در خاک‌های آلوده به کادمیم صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی پاسخ گیاه شبدر برسیم به تلقیح مشترک و جداگانه باکتری *ریزوبیوم تریفولی* و قارچ‌های آربسکولار میکوریز در خاک‌های آلوده به کادمیم بر وزن تر بخش هوایی و ریشه و غلظت عناصر غذایی آهن، روی و کادمیم در گیاه شبدر یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل سطوح مختلف آلودگی خاک به کادمیم (صفر، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بود که از منبع سولفات کادمیم تأمین و مصرف شدند. میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در خاک شامل قارچ میکوریز *گلوموس موسه‌آ* و *گلوموس اینترارادیسز* و باکتری *ریزوبیوم تریفولی* بودند که هم به‌صورت جداگانه و هم به‌صورت مخلوط با یکدیگر مورد استفاده قرار گرفتند. بنابراین تیمارها شامل تیمار بدون تلقیح (B)، تلقیح با قارچ *گلوموس موسه‌آ* (M)، تلقیح با قارچ *گلوموس اینترارادیسز* (I)، قارچ *گلوموس موسه‌آ* + باکتری *ریزوبیوم تریفولی* (MT)، قارچ *گلوموس اینترارادیسز* + باکتری *ریزوبیوم تریفولی* (IT)، تلقیح با باکتری *ریزوبیوم تریفولی* (T)، تلقیح با قارچ‌های *گلوموس موسه‌آ* + *گلوموس اینترارادیسز* (MI) و تلقیح با قارچ‌های *گلوموس موسه‌آ* + *گلوموس اینترارادیسز* + باکتری *ریزوبیوم تریفولی* (MIT) بود، بنابراین تعداد تیمارهای آزمایشی ۴۰ عدد است که با لحاظ کردن ۳ تکرار در مجموع ۱۲۰ واحد آزمایشی وجود داشت. خاک مورد استفاده در پژوهش از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان و از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری تهیه گردید، سپس خاک از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده با روش‌های رایج و توصیه شده اندازه‌گیری و برای انجام تحقیق انتخاب گردید. بعد از تجزیه کامل و مشخص شدن خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (جدول ۱) به میزان ۵ کیلوگرم خاک برای هر گلدان توزین و سپس اقدام به آلوده کردن با سطوح مختلف کادمیم شد.

بذر گیاه از شرکت پاکان بذر اصفهان، زاد مایه باکتری *ریزوبیوم تریفولی* از مرکز تحقیقات خاک و آب تهران و قارچ‌های *گلوموس موسه‌آ* و *گلوموس اینترارادیسز* نیز از شرکت زیست فناور توران شاهرود تهیه گردید. مقدار مصرف زادمایه قارچی ۵۰ گرم در هر جعبه بود که به‌طور یکنواخت در عمق ۵ سانتی‌متری از سطح خاک پخش گردید و روی آن مقدار کافی خاک ریخته شد، به‌طوری‌که زادمایه

قارچی در عمق ۱ سانتی‌متری زیر بذرها قرار گرفت. برای تیمارهای دارای مایه‌زنی مشترک هر دو گونه قارچی از مقدار ۲۵ گرم از هر گونه استفاده شد (۱)، لازم به ذکر است که برای تیمارهای شاهد به‌منظور یکسان کردن شرایط کشت به میزان ۵۰ گرم زادمایه قارچی استریل شده استفاده گردید. برای استریل کردن قارچ، نمونه قارچ مورد نظر به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو (مدل Zirbus LTA400) برای از بین بردن ریزجانداران قرار گرفت (۱ و ۱۵). بذر شبدر برسیم قبل از کاشت با باکتری *ریزوبیوم تریفولی* آغشته گردید. برای این منظور بذرها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم ۵ درصد قرار گرفتند و بلافاصله چندین بار با آب مقطر شسته شدند (۴۳). سپس بذر مورد نیاز هر تیمار در پتری‌دیش ریخته شده و ۱۰ میلی‌لیتر زاد مایه باکتری *ریزوبیوم تریفولی* به هر نمونه اضافه شد و به‌منظور تکمیل مایه‌زنی باکتریایی بذرها به مدت ۳۰ دقیقه در زاد مایه باقی ماندند. در هر میلی‌لیتر جمعیت باکتری *ریزوبیوم تریفولی* (cfu/ml[1]) 10^8–10^7 بود (۴۳).

همچنین در هر گلدان به‌طور یکسان ۲ گرم بذر شبدر برسیم کشت شد. بافت خاک مورد استفاده در آزمایش بافت لوم بود و خاک بعد از آلوده شدن به کادمیم، قبل از کاشت برای رسیدن به تعادل به‌مدت یک ماه در رطوبت ظرفیت مزرعه (FC) نگهداری گردید. عملیات داشت به مدت سه ماه انجام و در پایان دوره رشد، وزن تر بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر اندازه‌گیری شدند. پس از هضم خشک گیاه (۱۳)، عناصر کم‌مصرف موجود در عصاره هضم شده به روش خشک، با دستگاه جذب اتمی پس از کالیبره کردن دستگاه با استانداردهای مربوطه، اندازه‌گیری شدند. مقدار این عناصر برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک گزارش گردید. اطلاعات به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.4 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. در ضمن مقایسه میانگین تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

تأثیر سطوح مختلف کادمیم بر صفات موفولوژیک گیاه شبدر برسیم

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح کادمیم، نوع تلقیح و اثر متقابل تیمارها تأثیر معنی‌داری بر وزن تر بخش هوایی و ریشه، تعداد بوته در گلدان و ارتفاع گیاه در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۲).

بیشترین و کمترین وزن تر بخش هوایی گیاه شبدر برسیم در تیمار شاهد و تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک به‌ترتیب به‌میزان ۷۳/۴۲ و ۳۸/۱۶ گرم در گلدان به دست آمدند. همچنین بیشترین و کمترین وزن تر ریشه گیاه شبدر برسیم در تیمار شاهد و ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک به‌ترتیب به‌میزان ۶۱/۲۲ و ۳۰/۴۲ گرم در گلدان اندازه‌گیری شدند (شکل ۱). با افزایش سطح کادمیم در خاک از ارتفاع گیاه و تعداد بوته کاسته شد. بیشترین ارتفاع گیاه و تعداد بوته در گلدان در تیمار شاهد (بدون کاربرد کادمیم) به‌ترتیب به‌میزان ۳۹/۵۰ سانتی‌متر و ۳۲۳/۸۷ عدد در گلدان به‌دست آمدند (شکل‌های ۲ و ۳). شیرازی و همکاران (۳۶) گزارش کردند با افزایش سطح کادمیم، میانگین وزن تر شاخساره ارقام برنج نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. آلودگی خاک به‌وسیله کادمیم سبب کاهش وزن تر بخش‌های هوایی و ریشه، ارتفاع و تعداد گیاه شبدر برسیم شد. از آنجا که کادمیم به‌عنوان یک عنصر سمی برای گیاه در نظر گرفته می‌شود کاهش رشد گیاه در نتیجه سمیت کادمیم دور از انتظار نیست. کاباتا-پندیاس (۱۸) بیان کرد که سمیت کادمیم به‌طورکلی شامل اختلال در متابولیسم عناصر کم‌مصرف، نسبت دی‌اکسید کربن و تعرق، کاهش مقاومت در مقابل بیماری‌ها، کاهش جذب عناصر غذایی توسط گیاه، کاهش تعرق، کاهش راندمان آب مصرفی، ممانعت از فتوسنتز و کاهش نفوذپذیری دیواره سلولی در نتیجه افزایش ضخامت لایه اپیدرم می‌باشد. والاس و والاس (۴۰) سطوح کادمیم خاک را بر رشد و ترکیب شیمیایی گیاه ذرت مطالعه کردند و بیان داشتند که در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم در خاک‌های غیر آهکی گیاه ذرت از بین رفت. کاهش وزن بخش هوایی، ارتفاع گیاه و افزایش غلظت کادمیم ذرت بعد از ۲۴ روز تا ۱۱۰۰ و ۲۶۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم (به‌ترتیب در خاک غیر آهکی و آهکی) بود. پگی و همکاران (۳۰) گزارش کردند که افزایش غلظت کادمیم بیش از ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب کاهش میزان ماده خشک گیاهی در دو گیاه ذرت و کاهو گردید.

تاجی و گلچین (۳۷) طی تحقیقی تأثیر سطوح مختلف کادمیم و گوگرد را بر عملکرد، غلظت کادمیم و عناصر میکرو ذرت تحت شرایط گلخانه‌ای بررسی و بیان کردند که با افزایش سطوح کادمیم در خاک، غلظت کادمیم در بخش هوایی و ریشه گیاه ذرت افزایش، ولی وزن تر و خشک گیاه کاهش یافته است، کاربرد گوگرد و کادمیم باعث افزایش غلظت کادمیم و هم‌چنین کاهش غلظت عناصری مثل آهن، روی، مس و منگنز در گیاه شد. بررسی اثر غلظت‌های مختلف کادمیم بر ارقام ماش نشان داد که با افزایش مقدار کادمیم، وزن تر و خشک گیاه در همه ارقام کاهش یافت اما واکنش ارقام در کاهش وزن متفاوت بود (۱۴). نتایج محققین نشان می‌دهد که کاهش رشد بخش هوایی درنتیجه تأثیر کادمیم می‌تواند به علت کاهش میزان کلروفیل و فعالیت فتوسنتز نوع اول که در اثر تنش عناصر سنگین القا می‌شود، ایجاد گردد (۳۵).

1- Colony forming unit

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1- The physical and chemical properties of soil

شن Sand	سیلت Silt	رس Clay	بافت Texture	pHe	ECe	نیتروژن N	فسفر P	پتاسیم K	آهن Fe	روی Zn	مس Cu	منگنز Mn	کادمیم Cd	سرب Pb
	%		–	–	dS/cm	٪					mg/kg			
38.2	42.3	19.5	Loam	7.60	0.15	0.014	10	250	3.5	0.026	0.84	3.15	0.06	0.24

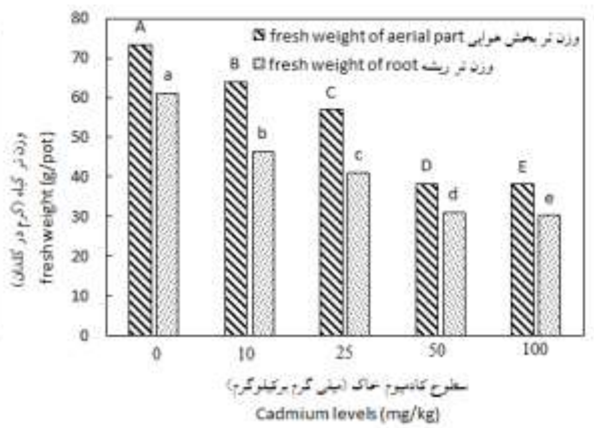
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن تر بخش هوایی و ریشه، تعداد بوته و ارتفاع گیاه شبدر برسیم

Table 2- The analysis of variance of data showing the effects of treatments on fresh weight of aerial part **and root, number of plant and height of berseem clover**

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square			
		وزن تر بخش هوایی Fresh weight of aerial part	وزن تر ریشه Fresh weight of root	تعداد بوته در گلدان Number of plant per pot	ارتفاع گیاه Height of plant
سطوح کادمیم Cadmium levels	4	5898.56**	3848.71**	365675.21**	7356.08**
نوع تلقیح Inoculation type	7	1558.39**	828.30**	248469.65**	5710.27**
سطوح کادمیم × نوع تلقیح Cadmium levels× Inoculation type	28	114.99**	130.13**	101919.05**	1354.61**
خطا Error	80	19.74	30.52	38904.66	575.33
درصد ضریب تغییرات Coefficient of Variations (%)	-	8.20	13.12	9.10	9.73

** و * به ترتیب در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار هستند و ns معنی‌دار نیست.

**and * significant at 1% and 5%, respectively and ns, not significant.

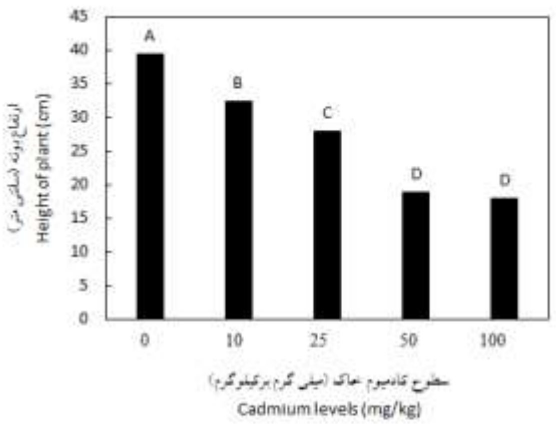


شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف کادمیم خاک بر وزن تر بخش هوایی و ریشه گیاه

(حروف بزرگ در بخش هوایی و حروف کوچک در ریشه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است)

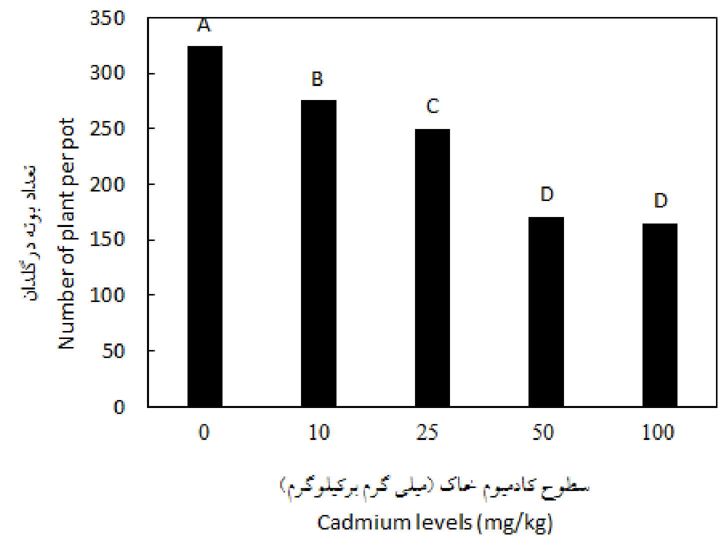
Figure 1- The effects of different level of cadmium on fresh weight of aerial part and root

(Uppercase letters for aerial part and lowercase letters for root indicate significant differences)



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف کادمیم خاک بر ارتفاع گیاه

Figure 2- The effects of different level of cadmium on height of plant



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف کادمیم خاک بر تعداد بوته در گلدان
Figure 3- The effects of different level of cadmium on number of plant per pot

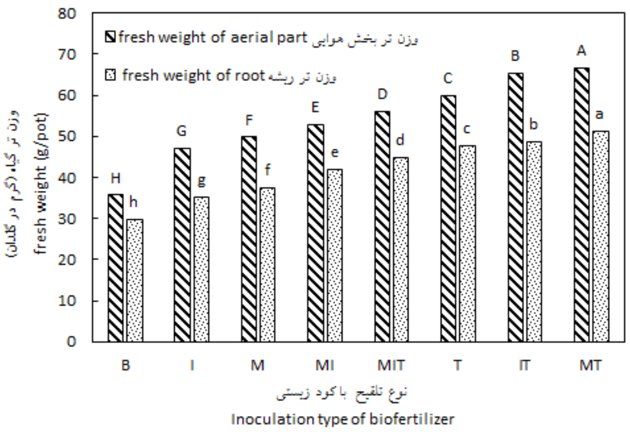
تأثیر نوع تلقیح بر صفات موفولوژیک گیاه شبدر برسیم

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد نـوع تلقـیح مشـترک و یـا جداگانه میکروارگانیسم‌ها بر وزن تر بخش هـوایی و ریشـه، ارتفـاع و تعداد گیاه شبدر برسیم در سطح احتمال یـک درصـد معنـی‌دار بودنـد (جدول ۲). بیشترین وزن تر بخـش هـوایی و ریشـه در تیمـار تلقـیح مشترک قارچ *گلوموس موسـه‌آ* و بـاکتری *ریزوبیـوم تریفـولی* (MT) به‌ترتیب به‌میـزان ۶۶/۶۲ و ۵۱/۲۵ گـرم در گلـدان مشـاهده شـدند. همچنین کمترین وزن تر بخش هوایی و ریشه در تیمار شاهد یا بدون تلقیح (B) به‌ترتیب به‌میزان ۳۵/۷۲ و ۲۹/۸۰ گرم در گلـدان مشـاهده شدند (شکل ۴). نتایج نشان داد بیشترین ارتفاع گیاه و تعـداد بوتـه در گلدان نیز در تیمار تلقیح مشترک قـارچ *گلومـوس موسـه‌آ* و بـاکتری *ریزوبیوم تریفولی* (MT) (به‌ترتیب ۳۶/۴۶ سانتی‌متـر و ۳۱۳ بوتـه در گلدان) مشاهده شدند (شکل‌های ۵ و ۶). ریچمن (۳۲) گـزارش کـرد که وزن خشک بخش هوایی گیاه سویای تلقیح شده با باکتری بـردی ریزوبیوم (باکتری همزیست سویا) ۳۸ درصد بیشتر از گیاه تلقیح نشده در شرایط تنش آرسنیک بود.

اثر متقابل کادمیم و نوع تلقیح بر صفات موفولوژیک گیـاه شبدر برسیم

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابـل کـادمیم و نـوع تلقیح بر وزن تر بخش هوایی و ریشه، ارتفاع و تعـداد گیـاه شـبدر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۲). بیشـترین وزن تـر بخش هوایی و ریشه در اثر تلقیح مشترک با قارچ *گلوموس موسـه‌آ* + *ریزوبیوم تریفولی* (MT) و بدون مصرف کادمیم بـه‌ترتیب بـه‌میـزان ۹۰/۰۷ و ۷۷/۳۰ گرم در گلدان به دست آمدند. همچنین کمترین وزن تر بخش هوایی و ریشه در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کـادمیم بـر کیلـوگرم خاک و بدون تلقیح (B) به ترتیب به میزان ۲۶/۳۷ و ۲۵/۵۵ گـرم در گلدان مشاهده شدند (جدول ۳). بیشترین ارتفاع گیاه و تعداد بوتـه در گلدان در تیمار اثر تلقیح مشترک با قارچ *گلوموس موسه‌آ* + *ریزوبیـوم تریفـولی* (MT) و بـدون مصـرف کـادمیم بـه‌ترتیـب بـه‌میـزان ۵۵ سانتی‌متر و ۵۱۵ بوته در گلدان به‌دست آمدند (جدول ۳).

تحقیقات انجام گرفته توسط جـونر و لیـوال (۱۷) نشـان داد کـه کـاهش جـذب کـادمیوم در گیـاه شـبدر بـه‌دلیـل حضـور همزیسـتی قارچ‌های میکوریزی با ریشه گیاه شـبدر مـی‌باشـد. همچنـین بیـان کردند که گیاهان میکوریزی عنصر کادمیوم را بیشتر از گیاهـان غیـر میکوریزی از خاک جذب می‌کنند ولی داخـل هیـف‌هـای خـود درون ریشه گیاه میزبان رسوب داده و اجازه انتقال کادمیوم را به انـدام‌هـای هوایی نمی‌دهنـد. ویسـن هـورن و همکـاران (۴۲) در بررسـی تـأثیر قارچ‌های میکوریزی بر گیاه ذرت در خاک‌های آلوده به عنصر سنگین کادمیوم نشان دادند کـه تلقـیح قـارچ‌هـای میکـوریزی جـدا شـده از زمین‌های آلوده به این عنصر سنگین درصد کلنیزاسـیون ریـشه را بـه قارچ بیشتر از قارچ‌های میکوریزی که از زمین‌های غیر آلوده جدا شده بودند افزایش می‌دهد. همچنین نتیجه گرفتند که گیاهـان میکـوریزی بیوماس گیاه را افزایش داده و غلظـت عناصـر سـنگین را در گیاهـان پایین می‌آورند. قارچ‌های میکوریزی مقاومت گیاه را در مقابل عناصـر سنگین افزایش می‌دهند. باردلی و بورت (۷) و چنگ و همکـاران (۹) اظهار نمودند که قارچ‌های میکوریزی انتقال سـرب و کـادمیوم را بـه ساقه گیاه کـاهش می‌دهند.

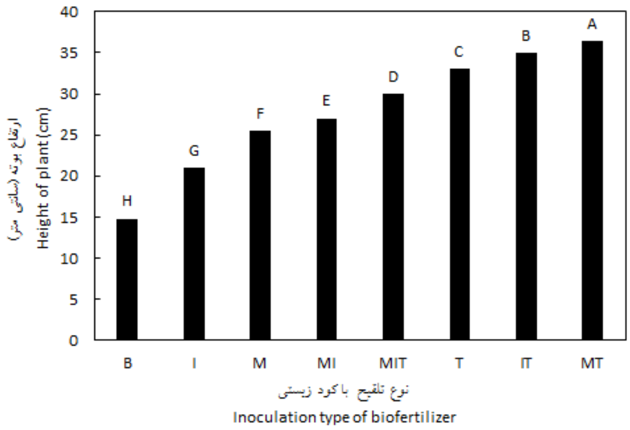


شکل ۴- تأثیر نوع تلقیح بر وزن تر بخش هوایی و ریشه گیاه.
B، I، M، MI، MIT، T، IT و MT به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح، تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترادیسیز+باکتری ریزوبیوم تریفولی، ریزوبیوم تریفولی، قارچ گلوموس اینترارادیسز+باکتری ریزوبیوم تریفولی و قارچ گلوموس موسه‌آ+ریزوبیوم تریفولی

(حروف بزرگ در بخش هوایی و حروف کوچک در ریشه نشان دهنده تفاوت معنی دار است)

Figure 4- The effects inoculation type on fresh weight of aerial part and root
B, I, M, MI, MIT, T, IT, and MT showed no inoculation, inoculation with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium trifolii*, *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, and *Glomus mosseae* + *Rhizobium trifolii*, respectively.

(Uppercase letters for aerial part and lowercase letters for root indicate significant differences)



شکل ۵- تأثیر نوع تلقیح بر ارتفاع گیاه.
B، I، M، MI، MIT، T، IT و MT به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح، تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترادیسیز+باکتری ریزوبیوم تریفولی، ریزوبیوم تریفولی، قارچ گلوموس اینترارادیسز+باکتری ریزوبیوم تریفولی و قارچ گلوموس موسه‌آ+ریزوبیوم تریفولی

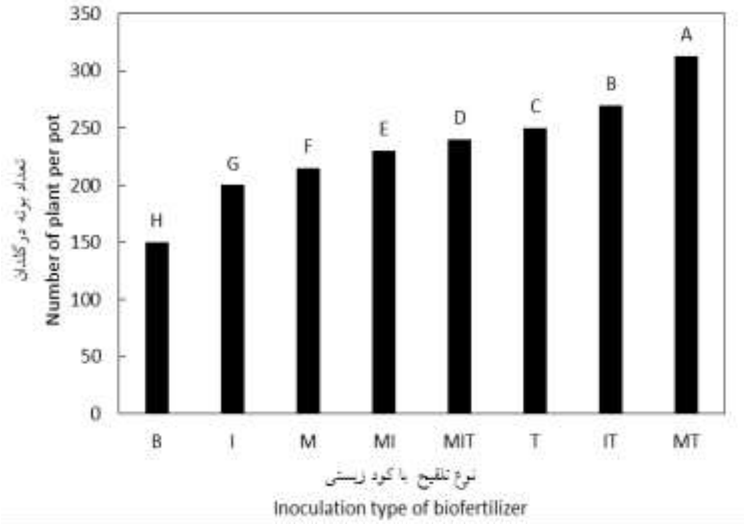
Figure 5- The effects inoculation type on height of plant.
B, I, M, MI, MIT, T, IT, and MT showed no inoculation, inoculation with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium trifolii*, *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, and *Glomus mosseae* + *Rhizobium trifolii*, respectively.

بسریل و همکاران (۵) در بررسی اثر قارچ‌های میکوریزی بر روی گیاه لوبیا در خاک‌های آلوده به عنصر کادمیم نشان دادند که با افزایش کادمیوم به خاک، بیوماس و رشد ریشه گیاه کاهش می‌یابد ولی در حضور قارچ‌های میکوریزی کادمیوم اثر منفی معنی‌دار بر بیوماس گیاه ندارد. قارچ‌های میکوریزی عملکرد گیاه لوبیا را در حضور کادمیوم نسبت به شاهد بدون قارچ افزایش دادند. در همین آزمایش عنصر کادمیوم فعالیت فتوسنتزی گیاه را کاهش داد و این کاهش در گیاهان میکوریزی ۱۵ تا ۳۱ درصد در گیاهان غیر میکوریزی ۶۲ تا ۷۶ درصد بود.

تأثیر سطوح مختلف کادمیم بر غلظت آهن، روی و کادمیم بخش هوایی و ریشه و جذب کادمیم گیاه شبدر

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که افزایش غلظت کادمیم خاک، اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر غلظت آهن، روی، کادمیم بخش هوایی و ریشه و جذب کادمیم زیست توده گیاه داشت (جدول ۴). با افزایش سطوح کادمیم خاک، غلظت آهن و روی بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر کاهش ولی غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه و جذب کادمیم زیست توده گیاه افزایش یافت. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان دادند تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک غلظت آهن و روی بخش هوایی گیاه شبدر برسیم را به‌ترتیب به‌میزان ۴۸/۸۶ و ۴۲/۱۶ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (شکل‌های ۷ و ۸). همچنین نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک غلظت آهن و روی ریشه گیاه شبدر برسیم را به‌ترتیب به‌میزان ۵۱/۷۶ و ۲۰/۴۸ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داد (شکل‌های ۷ و ۸). بیشترین غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه و جذب کادمیم زیست توده گیاه

مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک و کم‌ترین غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه و جذب کادمیم زیست توده گیاه از تیمار شاهد به‌دست آمدند (شکل ۹).



شکل ۶- تأثیر نوع تلقیح بر تعداد بوته در گلدان

B، I، M، MI، MIT، T، IT و MT به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح، تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترادیسیز+باکتری ریزوبیوم تریفولی، ریزوبیوم تریفولی، قارچ گلوموس اینترارادیسز+باکتری ریزوبیوم تریفولی و قارچ گلوموس موسه‌آ+ریزوبیوم تریفولی

Figure 6- The effects inoculation type on number of plant per pot
B, I, M, MI, MIT, T, IT, and MT showed no inoculation, inoculation with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium trifolii*, *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, and *Glomus mosseae* + *Rhizobium trifolii*, respectively.

کادمیم اساساً در تحرک و انتقال عناصر کم‌مصرف به برگ‌ها دخالت دارد (۳۳) و با مصرف کادمیم و روی، غلظت آهن در دانه گندم به‌میزان ۵۰/۰۷ درصد کاهش پیدا می‌کند. مک لاگین و همکاران (۲۴) گزارش کردند که میزان جذب کادمیم گیاه با افزایش غلظت کادمیم خاک رابطه مستقیم داشت. برخی محققان در آزمایش‌های خود بر روی گیاه گندم به این نتیجه رسیدند که جذب کادمیم در دانه گندم با مقدار کل کادمیم خاک رابطه مستقیم داشت (۱۸). لاگرورف و همکاران (۲۰)، اثر متقابل بین میزان کادمیم کل خاک و محتوای کادمیم در گیاه را برای گیاه نخود و کلم بررسی کردند و بیان نمودند که با افزایش میزان کادمیم خاک بر غلظت آن در گیاهان فوق افزوده شد. موبین و خان (۲۶) با بررسی اثر اصلی کادمیم بر روی غلظت کادمیم بخش هوایی گیاه نشان دادند که با افزایش غلظت کادمیم خاک، غلظت و جذب این عنصر در گیاه افزایش یافت. زیمداح (۴۵) نشان دادند که افزایش محتوای کادمیم خاک، باعث افزایش محتوای این عنصر در ریشه شد.

تأثیر نوع تلقیح بر غلظت آهن، روی و کادمیم بخش هوایی و ریشه و جذب کادمیم گیاه شبدر

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، نشان داد که تاثیر نوع تلقیح بر غلظت آهن، روی و کادمیم بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر برسیم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند، ولی نوع تلقیح تاثیری بر جذب کادمیم زیست توده گیاه نداشت (جدول ۴). تلقیح با ریزجانداران اثر مثبتی بر غلظت آهن و روی بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر داشت و تلقیح با قارچ میکوریز و باکتری *ریزوبیوم تریفولی* باعث کاهش غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر برسیم شد. بیشترین غلظت آهن بخش هوایی و ریشه در اثر تلقیح با قارچ میکوریز *گلوموس موسه‌آ* و باکتری *ریزوبیوم تریفولی* (MT) به‌ترتیب به‌میزان ۲۳۶/۶ و ۳۰۳/۷۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شدند و همچنین کمترین غلظت آهن بخش هوایی و ریشه در تیمار بدون تلقیح (B) (به‌ترتیب ۱۱۸/۰۶ و ۱۳۶/۷۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اندازه‌گیری شدند (شکل ۱۰).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح کادمیم و نوع تلقیح بر وزن تر بخش هوایی و ریشه، تعداد بوته و ارتفاع گیاه شبدر برسیم

Table 3- Mean comparison of interactions between cadmium levels and inoculation type on fresh weight of aerial part and root, number of plant and height of berseem clover

سطوح کادمیم Cadmium levels	نوع تلقیح Inoculation type	وزن تر بخش هوایی Fresh weight of aerial part	وزن تر ریشه Fresh weight of root	تعداد بوته در گلدان Number of plant per pot	ارتفاع گیاه Height of plant
mg/kg		g/pot		-	cm
0	B	34.84 l	28.76 m-o	165.00 m-p	18.00 m-o
	I	62.44 e-g	42.92 c-i	250.00 e-g	27.00 i
	M	69.91 ed	51.02 b-e	313.00 cd	39.00 d-g
	T	82.4 bc	74.53 a	340.00 bc	45.00 bc
	MI	79.29 c	68.27 a	323.00 b-d	42.00 c-e
	IT	88.59 ab	75.26 a	360.00 b	47.00 b
	MT	90.07 a	77.3 a	515.00 a	55.00 a
	MIT	79.88 c	71.72 a	325.00 b-d	43.00 b-d
10	B	55.73 f-i	40.01 f-l	240.00 f-i	25.30 i-k
	I	56.29 f-g	40.48 e-k	243.00 f-h	26.00 ij
	M	56.88 f-i	41.07 d-j	249.33 e-g	26.10 ij
	T	70.68 de	51.57 b-d	315.00 dc	39.10 d-g
	MI	58.91 f-h	42.76 c-i	250.00 e-g	26.20 ij
	IT	75.06 cd	52.5 bc	320.00 b-d	40.00 d-g
	MT	75.41 cd	57.83 b	321.00 b-d	41.00 c-f
	MIT	63.65 ef	45.77 c-g	265.33 ef	34.00 h
25	B	30.41 lm	27.02 no	140.00 p	9.00 pq
	I	53.46 h-k	37.1 g-n	215.00 g-l	25.00 i-l
	M	53.75 h-j	37.37 fn	230.00 f-k	25.10 i-l
	T	63.97 ef	46.19 c-g	289.00 de	36.00 g-h
	MI	54.45 g-j	38.65 f-m	233.00 f-j	25.00 i-l
	IT	67.79 de	47.97 b-f	309.00 cd	37.00 f-h
	MT	68.02 de	50.89 b-e	310.00 cd	38.00 e-h
	MIT	63.57 ef	44.16 c-h	264.00 ef	27.10 i
50	B	31.28 lm	26.67 m-o	143.00 p	13.33 op
	I	31.65 lm	27.75 m-o	153.68 op	14.00 o
	M	32.53 lm	28.46 m-o	160.00 n-p	17.00 no
	T	36.66 l	32.64 i-o	204.00 h-m	21.20 j-n
	MI	35.83 l	29.93 k-o	181.00 l-p	20.10 k-n
	IT	49.47 i-k	34.91 h-o	209.00 g-l	24.20 i-l
	MT	52.86 h-k	36.68 g-n	210.00 g-l	24.30 i-l
	MIT	36.52 l	31.43 j-o	198.00 i-n	21.10 j-n
100	B	26.37 m	25.55 o	94.00 q	5.00 q
	I	33.96 lm	27.77 m-o	158.00 n-p	14.10 o
	M	35.75 l	29.18 l-o	180.00 l-p	20.00 l-n
	T	45.47 k	32.21 i-o	208.00 g-l	23.00 i-m
	MI	36.26 l	30.26 j-o	189.33 k-o	20.66 k-n
	IT	46.24 jk	33.27 i-o	209.00 g-l	23.10 i-m
	MT	46.73 jk	33.53 h-o	209.00 g-l	24.00 i-l
	MIT	36.45 l	30.61 j-o	195.00 j-o	21.00 j-n

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

In each column, means with similar letters don't have significantly different in probability level of 5%, from the view point of Duncan's multiple range tests.

B، I، M، MI، MIT، T، IT و MT به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح، تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترادیسیز+باکتری ریزوبیوم تریفولی، ریزوبیوم تریفولی، قارچ گلوموس اینترارادیسز+باکتری ریزوبیوم تریفولی و قارچ گلوموس موسه‌آ+ریزوبیوم تریفولی.

B, I, M, MI, MIT, T, IT, and MT showed no inoculation, inoculation with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium trifolii*, *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, and *Glomus mosseae* + *Rhizobium trifolii*, respectively.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس تیمارهای آزمایشی بر غلظت آهن، روی و کادمیم بخش هوایی و ریشه و جذب کادمیم گیاه شبدر برسیم

Table 4- The analysis of variance of data showing the effects of treatments on Fe, Zn, Cd concentrations in aerial part and root and Cd uptake of berseem clover

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square						
		غلظت آهن بخش هوایی Fe in aerial part	غلظت آهن ریشه Fe in root	غلظت روی بخش هوایی Zn in aerial part	غلظت روی ریشه Zn in root	غلظت کادمیم بخش هوایی Cd in aerial part	غلظت کادمیم ریشه Cd in root	جذب کادمیم Cd uptake
سطوح کادمیم Cadmium levels	4	70586.84**	145742.17**	9477.48**	1744.53**	351.19**	908.72**	0.075**
نوع تلقیح Inoculation type	7	23202.97**	43701.07**	2601.42**	721.98**	5.08**	13.36**	0.0002ns
سطوح کادمیم × نوع تلقیح Cadmium levels× Inoculation type	28	1597.77**	3496.25**	213.15**	69.55**	0.55**	1.34**	0.0002*
خطا Error	80	105.90	328.12	17.45	16.20	0.07	0.38	0.0001
درصد ضریب تغییرات Coefficient of Variations (%)	-	5.43	7.65	4.95	4.53	6.93	9.16	5.25

** و * به ترتیب در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار هستند و ns معنی‌دار نیست.

**and * significant at 1% and 5%, respectively and ns, not significant.

همچنین بیشترین و کمترین غلظت روی بخش هـوایی و ریشـه به‌ترتیب در اثر تلقیح بـا قـارچ میکـوریز *گلومـوس موسـه‌آ* و بـاکتری *ریزوبیوم تریفولی* (MT) و تیمار بدون تلقـیح (B) (بـه‌میـزان ۶۰/۵ و ۷۶/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اندازه‌گیری شـدند (شـکل ۱۱) در مقابـل کمترین غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشـه در اثـر تلقـیح بـا قـارچ میکوریز *گلوموس موسه‌آ* و باکتری *ریزوبیوم تریفولی* (MT) به‌ترتیـب به‌میزان ۳/۳۱ و ۵/۶۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شـد و همچنـین بیشترین غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشـه در تیمـار بـدون تلقـیح (B) به‌ترتیب به‌میزان ۵/۰۴ و ۸/۳۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیـری شدند (شکل ۱۲).

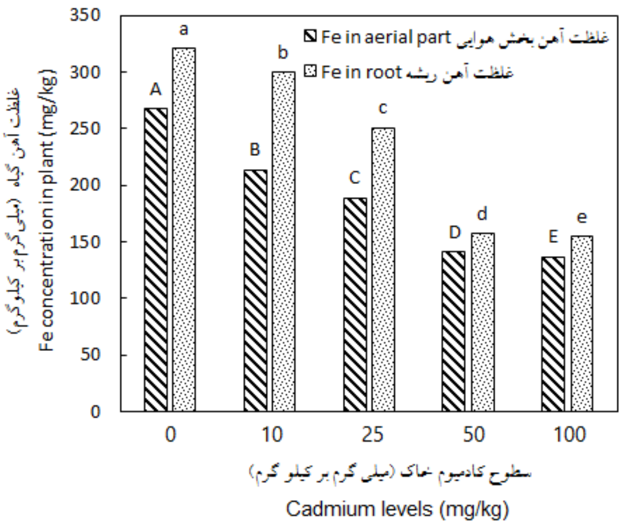
گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریزی توانایی متفـاوتی در جـذب آهن نشان می‌دهند. گزارش شده است کـه قـارچ‌هـای میکـوریزی از طریق ترشح انواعی از سـیدروفورهـا و کلاتـه کـردن آهـن، موجـب افزایش جذب و انتقال آهن در گیاه بادام‌زمینی و سـورگوم شـدند (۸). سیدروفورها، کلات‌ها یا ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم هستند کـه دارای میل ترکیبی شدید و اختصاصی برای کمپلکس کردن با برخـی کاتیون‌ها از جمله آهن می‌باشند. گیاهان می‌تواننـد از سـیدروفورهای تولید شده توسط قارچ میکوریز به‌عنوان عاملی برای تأمین آهن مـورد نیاز خود استفاده کنند (۳). کلارک و زتـو (۱۰) در بررسـی همزیسـت میکوریز با ذرت نشان دادند کـه همزیسـتی میکـوریز سـبب افـزایش جذب آهن گردید. روی مانند فسفر در خـاک تحـرک کمـی داشـته و جذب آن توسط ریشه به‌سرعت پخشیدگی این عنصر در خاک بستگی دارد. گسترش هیف‌های خارجی و افزایش حجم خاک قابل دسـترس، نقش مهمی در افزایش جذب روی به‌خصوص در شـرایط تـنش‌هـای محیطی دارد (۳۸). همچنین در ترشحات ریشـه گیاهـان میکـوریزایی ترکیبات مختلفی از قبیل اسیدهای آمینه و اسـیدهـای کربوکسـیلیک شناسایی شدند و همچنین به نظر می‌رسد که کمپلکس به وجود آمده از این ترکیبات و عنصر روی منجر به افزایش سرعت پخشیدگی ایـن عنصر شده و جذب روی به‌وسیله گیاه میزبان افـزایش پیـدا مـی‌کنـد (۳۵).

جانسکوا و همکاران (۱۶) نشان دادنـد کـه تلقـیح بـا قـارچ‌هـای میکوریزی در خاک آلوده به عنصر کادمیم، غلظـت ایـن عنصـر را در ساقه گیاه توتون کاهش داد. بریسیل و همکاران (۵) نشان دادنـد کـه غلظت کادمیم بخش هوایی گیاه لوبیا در حضور قارچ میکوریز افزایش یافت ولی غلظت کادمیم در بذر لوبیا در حضـور قـارچ‌هـای میکـوریز نسبت به تیمار بدون قارچ به‌طور معنی‌داری کاهش یافـت. آنـدراده و همکاران (۴) نشان دادند در خاک‌های آلوده به عناصر سنگین، تلقـیح با قارچ‌های میکوریزی جذب این عناصر را در گیاه سویا افزایش دادند و این عناصر در ریشه‌ها تجمع یافتند و کمتر به بخش هوایی و بذرها انتقال یافتند. جونر و لیوال (۱۷) نیـز گـزارش کردنـد کـه همزیسـتی قارچ‌های میکوریز با ریشه گیاه شبدر سبب افزایش جـذب کـادمیم در ریشه و کاهش انتقال آن از ریشه به بخش هوایی شد که دلیـل آن را به فعال شدن موانع بیولوژیکی در مقابل اثرات سـمی کـادمیم نسـبت دادند. اگرچه نتایج آزمـایش‌هـای انجـام یافتـه در زمینـه قـارچ‌هـای

میکوریزی و فلزات سنگین، متنوع و وابسته به شرایط آزمایش ازجمله ویژگی‌های بستر رشد، نوع گیاه و گونه قارچ همزیست می‌باشد ولی به‌طورکلی به‌نظر می‌رسد قارچ میکوریز آربسکولار قادر به تعدیل سمیت ایجاد شده توسط فلز سنگین برای گیاه باشند (۷). ریسه‌های قارچ‌های میکوریز، فلزات سنگین را درون خود نگه‌داشته و باعث کاهش غلظت آن‌ها به‌داخل گیاه میزبان و مسمومیت کمتر آن می‌شود و از این طرق به تحمل تنش توسط گیاه کمک می‌کنند (۱۲).

اثر متقابل کادمیم و نوع تلقیح بر غلظت آهن، روی و کادمیم بخش هوایی و ریشه و جذب کادمیم گیاه شبدر برسیم

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل کادمیم و نوع تلقیح بر غلظت آهن، روی و کادمیم بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند. همچنین اثر متقابل کادمیم و نوع تلقیح در سطح احتمال پنج درصد بر جذب کادمیم زیست توده گیاه معنی‌دار شد (جدول ۴).

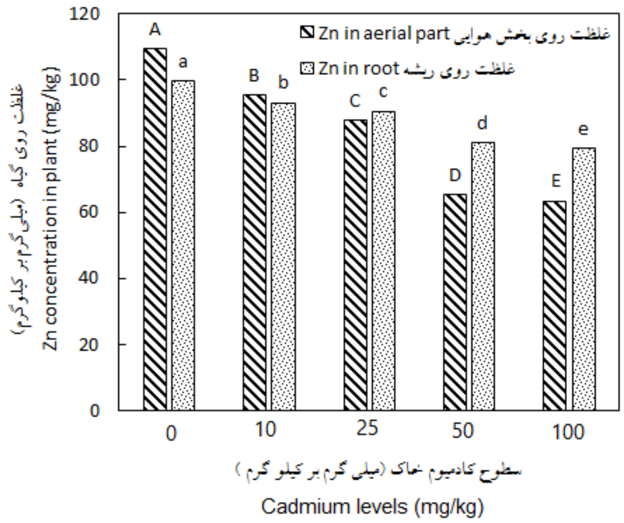


شکل ۷- تأثیر سطوح مختلف کادمیم خاک بر غلظت آهن بخش هوایی و ریشه.

B، I، M، MI، MIT، T، IT و MT به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح، تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترادیسیز+باکتری ریزوبیوم تریفولی، ریزوبیوم تریفولی، قارچ گلوموس اینترارادیسز+باکتری ریزوبیوم تریفولی و قارچ گلوموس موسه‌آ+ریزوبیوم تریفولی

(حروف بزرگ در غلظت آهن بخش هوایی و حروف کوچک در غلظت آهن ریشه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است)

Figure 7- The effects of different level of cadmium on Fe concentration in aerial part and root
B, I, M, MI, MIT, T, IT, and MT showed no inoculation, inoculation with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium trifolii*, *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, and *Glomus mosseae* + *Rhizobium trifolii*, respectively.
(Uppercase letters for Fe concentration in aerial part and lowercase letters for Fe concentration in root indicate significant differences)

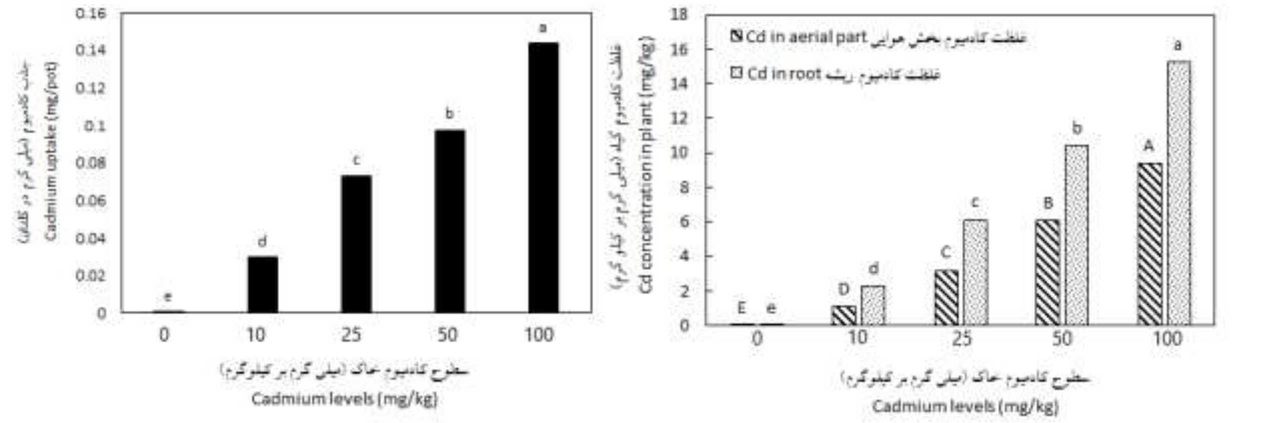


شکل ۸- تأثیر سطوح مختلف کادمیم خاک بر غلظت روی بخش هوایی و ریشه.

B، I، M، MI، MIT، T، IT و MT به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح، تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترادیسیز+باکتری ریزوبیوم تریفولی، ریزوبیوم تریفولی، قارچ گلوموس اینترارادیسز+باکتری ریزوبیوم تریفولی و قارچ گلوموس موسه‌آ+ریزوبیوم تریفولی

(حروف بزرگ در غلظت روی بخش هوایی و حروف کوچک در غلظت روی ریشه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است)

Figure 8- The effects of different level of cadmium on Zn concentration in aerial part and root
B, I, M, MI, MIT, T, IT, and MT showed no inoculation, inoculation with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium trifolii*, *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, and *Glomus mosseae* + *Rhizobium trifolii*, respectively.
(Uppercase letters for Zn concentration in aerial part and lowercase letters for Zn concentration in root indicate significant differences)



شکل ۹- تأثیر سطوح مختلف کادمیم خاک بر غلظت و جذب کادمیم بخش هوایی و ریشه

(حروف بزرگ در غلظت کادمیم بخش هوایی و حروف کوچک در غلظت کادمیم ریشه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است)

Figure 9- The effects of different level of cadmium on Cd concentration in aerial part and root and Cd uptake

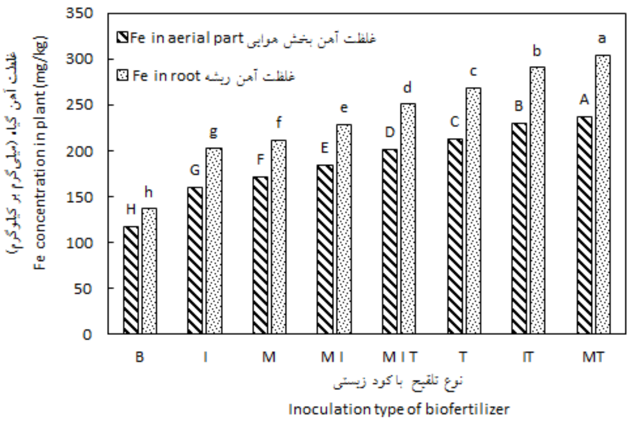
(Uppercase letters for Cd concentration in aerial part and lowercase letters for Cd concentration in root indicate significant differences)

بیشترین غلظت آهن بخش هوایی و ریشه در اثر تلقیح مشترک با قارچ *گلوموس موسه‌آ* + *ریزوبیوم تریفولی* و بدون مصرف کادمیم به‌ترتیب به‌میزان ۳۶۲ و ۴۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کمترین غلظت آهن بخش هوایی و ریشه در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک و بدون تلقیح به‌ترتیب به‌میزان ۶۶ و ۹۷/۳۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شدند (جدول ۵). همچنین بیشترین غلظت روی بخش هوایی و ریشه در اثر تلقیح با قارچ *گلوموس موسه‌آ* + *ریزوبیوم تریفولی* و بدون مصرف کادمیم به‌ترتیب به‌میزان ۱۳۶/۸۳ و ۱۱۲/۶۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌دست آمدند. همچنین کمترین غلظت روی بخش هوایی و ریشه در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک و بدون تلقیح به‌ترتیب به‌میزان ۵۲/۶۶ و ۶۳/۱۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شدند (جدول ۵). رسولی صدقیانی و همکاران (۳۱) اظهار داشتند که جذب بالای کادمیم منجر به بروز مشکلات ناشی از انتقال آهن، روی، مس و سایر عناصر کم‌مصرف در گیاه می‌شود. کاهش غلظت عناصر کم‌مصرف به‌دلیل کاهش سطح توسعه ریشه و کاهش متابولیسم گیاه اتفاق می‌افتد. تلقیح گیاه با قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌ها می‌تواند از طریق ترشح سیدروفورها و کلاته کردن عناصر کم‌مصرف مذکور انتقال آن‌ها را افزایش دهند. کمترین غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه در اثر تلقیح با قارچ *گلوموس موسه‌آ* + *ریزوبیوم تریفولی* و بدون مصرف کادمیم به‌ترتیب به‌میزان ۰/۰۰۱۲ و ۰/۰۰۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌دست آمدند و بیشترین غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک و بدون تلقیح به‌ترتیب به‌میزان ۱۱/۲۵ و ۱۷/۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شدند (جدول ۵). همچنین بیشترین جذب کادمیم زیست توده گیاه به ترتیب در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک و با تلقیح *ریزوبیوم تریفولی* اندازه‌گیری شدند (جدول ۵). در گیاهان میکوریزایی، هیف‌های قارچی قادر هستند با نگهداری فلز در خود و عدم انتقال آن به سیستم گیاه باعث کاهش سمیت فلز سنگین شوند (۲۷ و ۳۹). به‌نظر می‌رسد در غلظت‌های بالای کادمیم، قارچ *گلوموس اینترارادیسز* این کار را بهتر از قارچ *گلوموس موسه‌آ* انجام می‌دهد. رسولی صدقیانی و همکاران (۳۱) عنوان کردند غلظت کادمیم در بخش هوایی گیاه خارزن بابا در تیمار باکتریایی در همه سطوح کادمیم در خاک، بیشتر از تیمار قارچی بود. آنان گزارش کردند که نوع جمعیت میکروبی (قارچی و باکتریایی)، غلظت فلزات و نوع گیاه می‌توانند تأثیراتی متفاوت بر جذب و انتقال فلزات سنگین داشته باشند.

نتیجه‌گیری

با افزایش غلظت کادمیم در خاک وزن تر بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر برسیم و غلظت عناصر غذایی آهن و روی به‌طور معنی‌داری کاهش و غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه و جذب کادمیم زیست توده گیاه افزایش یافت. تلقیح خاک با ریزجانداران توانست اثر سوء آلودگی کادمیم بر گیاه را کاهش داد. کمترین وزن تر بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر برسیم در تیمار بدون تلقیح و بیشترین مقدار این صفت‌ها در اثر تلقیح مشترک قارچ میکوریز *گلوموس موسه‌آ* و باکتری *ریزوبیوم تریفولی* مشاهده گردید. همچنین تلقیح مشترک قارچ میکوریز *گلوموس موسه‌آ* و باکتری *ریزوبیوم تریفولی* غلظت آهن و روی بخش هوایی و ریشه را افزایش و غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه را کاهش داد. همچنین بیشترین جذب کادمیم زیست توده گیاه در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم

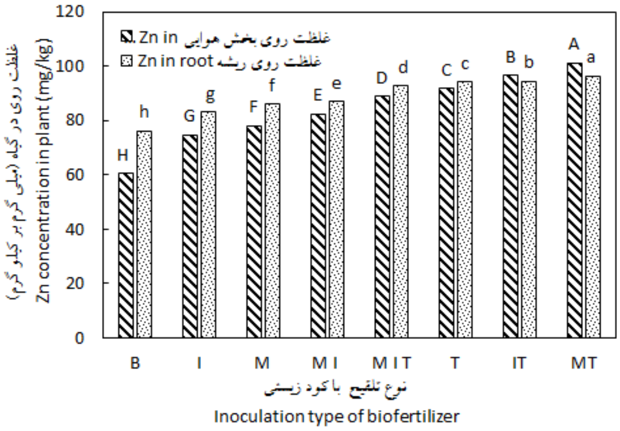
خاک و با تلقیح *ریزوبیوم تریفولی* مشاهده شد. این امر نشان داد که باکتری *ریزوبیوم تریفولی* تاثیر کمتری در کاهش جذب کادمیم توسط گیاه داشت. از این‌رو، تلقیح مشترک قارچ گلوموس موسه‌آ و باکتری ریزوبیوم تریفولی به‌دلیل بهبود تغذیه عناصر کم‌مصرف مثل آهن و روی، وزن تر بخش هوایی و ریشه و هم‌چنین کاهش غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر برسیم در خاک‌های آلوده به کادمیم توصیه می‌گردد.



شکل ۱۰- تأثیر نوع تلقیح بر غلظت آهن بخش هوایی و ریشه گیاه. B، I، M، MI، MIT، T، IT و MT به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح، تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترادیسیز+باکتری ریزوبیوم تریفولی، ریزوبیوم تریفولی، قارچ گلوموس اینترارادیسز+باکتری ریزوبیوم تریفولی و قارچ گلوموس موسه‌آ+ریزوبیوم تریفولی

(حروف بزرگ در غلظت آهن بخش هوایی و حروف کوچک در غلظت آهن ریشه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است)

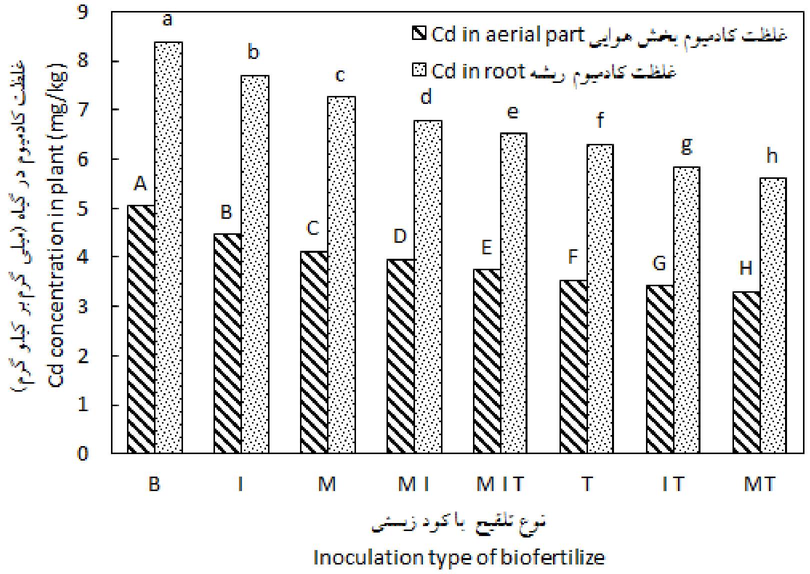
Figure 10- The effects inoculation type on Fe concentration in aerial part and root.
B, I, M, MI, MIT, T, IT, and MT showed no inoculation, inoculation with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium trifolii*, *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, and *Glomus mosseae* + *Rhizobium trifolii*, respectively.
(Uppercase letters for Fe concentration in aerial part and lowercase letters for Fe concentration in root indicate significant differences)



شکل ۱۱- تأثیر نوع تلقیح بر غلظت روی بخش هوایی و ریشه گیاه. B، I، M، MI، MIT، T، IT و MT به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح، تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترادیسیز+باکتری ریزوبیوم تریفولی، ریزوبیوم تریفولی، قارچ گلوموس اینترارادیسز+باکتری ریزوبیوم تریفولی و قارچ گلوموس موسه‌آ+ریزوبیوم تریفولی

(حروف بزرگ در غلظت روی بخش هوایی و حروف کوچک در غلظت روی ریشه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است)

Figure 11- The effects inoculation type on Zn concentration in aerial part and root.
B, I, M, MI, MIT, T, IT, and MT showed no inoculation, inoculation with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium trifolii*, *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, and *Glomus mosseae* + *Rhizobium trifolii*, respectively.
(Uppercase letters for Zn concentration in aerial part and lowercase letters for Zn concentration in root indicate significant differences)



شکل ۱۲- تأثیر نوع تلقیح بر غلظت کادمیم بخش هوایی و ریشه گیاه.

B، I، M، MI، MIT، T، IT و MT به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح، تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترادیسیز+باکتری ریزوبیوم تریفولی، ریزوبیوم تریفولی، قارچ گلوموس اینترارادیسز+باکتری ریزوبیوم تریفولی و قارچ گلوموس موسه‌آ+ریزوبیوم تریفولی

(حروف بزرگ در غلظت کادمیم بخش هوایی و حروف کوچک در غلظت کادمیم ریشه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار است)

Figure 12- The effects inoculation type on Cd concentration in aerial part and root.
B, I, M, MI, MIT, T, IT, and MT showed no inoculation, inoculation with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium trifolii*, *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*, and *Glomus mosseae* + *Rhizobium trifolii*, respectively.
(Uppercase letters for Cd concentration in aerial part and lowercase letters for Cd concentration in root indicate significant differences)

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل سطوح کادمیم و نوع تلقیح بر غلظت آهن، روی و کادمیم بخش هوایی و ریشه گیاه شبدر برسیم

Table 5- Mean comparison of interactions between cadmium levels and inoculation type on Fe, Zn, and Cd concentrations in aerial part and root of berseem clover

سطوح کادمیم Cadmium levels	نوع تلقیح Inoculation type	غلظت آهن بخش هوایی Fe in aerial part	غلظت آهن ریشه Fe in root	غلظت روی بخش هوایی Zn in aerial part	غلظت روی ریشه Zn in root	غلظت کادمیم بخش هوایی Cd in aerial part	غلظت کادمیم ریشه Cd in root	جذب کادمیم Cd uptake	
mg/kg				mg/kg				mg/pot	
0	B	129 vw	114 m-o	58.67 k-p	80.53 d-e	0.0022 t	0.0065 q	0.0001	l
	I	208.33 j-l	291.67 fg	95.50 ef	89.67 cd	0.0020 t	0.0098 q	0.00008	m
	M	237 gh	308.33 d-f	103.50 de	100.80 b	0.0019 t	0.0079 q	0.00008	m
	T	295.33 c	350 bc	119.17 bc	103.90 ab	0.0015 t	0.0056 q	0.00007	n
	MI	276.66 de	374 bc	117.17 c	102.70 b	0.0018 t	0.0078 t	0.00007	n
	IT	342 b	375 b	128 ab	104 ab	0.0014 t	0.0049 q	0.00008	m
	MT	362 a	430 a	136.83 a	112.61 a	0.0012 t	0.0046 q	0.0001	l
	MIT	286.66 cd	350 bc	117.67 c	103.30 b	0.0016 t	0.0061 q	0.00008	m
10	B	175.33 n-p	266.67 gh	82.83 g	84.23 d-f	1.8 q	4.24 mn	0.045	i
	I	182.66 m-o	270.33 gh	83.83 g	84.83 de	1.4 qr	3.55 n	0.028	k
	M	191.16 l-n	283.33 fg	85.33 g	84.83 de	1.1 rs	2.34 o	0.037	j
	T	241 gh	326.50 c-e	104.50 de	101.70 b	0.88 s	1.6 op	0.027	k
	MI	194 k-m	288.67 fg	86.83 fg	85.43 de	0.96 rs	1.9 op	0.024	kl
	IT	2536 f-g	230 c-e	106 d	102.10 b	0.86 s	1.56 op	0.027	k
	MT	260 ef	333.33 dc	116.17 c	102.50 b	0.82 s	1.02 pq	0.024	kl

	MIT	210.66 jk	297.33 e-g	99 de	99.60 b	0.91 s	1.89 op	0.025	kl
25	B	110 x	100 no	53.67 op	74.29 f	4.6 l	7.3 ig	0.053	h
	I	168.33 or	233.33 i	81.83 g	83.73 d-f	3.8 m	6.6 jk	0.073	g
	M	173.66 n-q	238.67 hi	81.83 g	83.73 d-f	3.33 n	6.5 jk	0.077	fg
	T	216 ij	300 d-g	100.50 de	100.20 b	2.7 op	5.8 lk	0.081	f
	MI	175 n-p	241.67 hi	82.33 g	83.93 d-f	3.13 no	6.2 ljk	0.076	fg
	IT	228.67 i	300 d-g	102 de	100.40 b	2.6 p	5.46 lk	0.079	f
	MT	231 hi	300 d-g	102 de	100.50 b	2.5 p	5.1 lm	0.070	g
	MIT	208.33 j-l	291.67 gf	98 de	98 bc	7.56 g	12.6 f	0.076	fg
50	B	110 x	105.67 no	54.67 m-p	78.73 ef	6.9 h	11.8 f	0.096	def
	I	118.33 wx	105.67 no	56.17 m-p	78.83 ef	6.51 hi	11.67 f	0.098	de
	M	123.66 v-x	144 m-o	58.67 k-p	80.12 d-f	5.2 j	9.8 g	0.095	ef
	T	154.33 q-t	172 kl	67.17 j-l	82.23 d-f	6.4 i	10.56 g	0.094	ef
	MI	137.33 t-v	130.67 m-o	62.17 j-p	80.94 d-f	5.19 k	8.4 h	0.095	ef
	IT	163.33 p-r	230.33 i	77.33 g-i	83.13 d-f	5.12 k	8.2 hi	0.096	def
	MT	168.33 o-r	230.33 i	79.83 gh	83.13 d-f	5.9 j	10.24 g	0.100	de
	MIT	152.33 r-t	166.67 lk	65.66 j-m	83.13 d-f	5.19 k	8.4 h	0.102	de
100	B	66 y	97.33 o	52.67 p	63.17 g	10.20 b	16.6 b	0.106	d
	I	112.66 v-x	112.50 no	56.17 l-p	79.50 d-f	9.66 c	15.8 bc	0.148	b
	M	132.66 u-w	114.33 m-o	60.67 j-p	80.83 d-f	8.88 ed	14.3 ed	0.140	c
	T	158.33 t	191.67 jk	68.17 i-k	82.53 d-f	9.29 cd	15.3 dc	0.154	a
	MI	141 s-v	133.33 nm	63.17 j	81.13 d-f	8.5 ed	13.8 e	0.152	ab
	IT	160 p-r	216.67 ij	69.66 ij	82.73 d-f	8.12 f	13.73 e	0.152	ab
	MT	161.66 p-r	225 i	70.72 h-j	82.73 d-f	9.2 cd	14.6 ed	0.146	bc
	MIT	150.33 rv	147 lm	64.67 j-n	81.42 d-f	11.25 a	17.8 a	0.149	b

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

In each column, means with similar letters don't have significantly different in probability level of 5%, from the view point of Duncan's multiple range tests.

B، I، M، MI، MIT، T، IT و MT به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم تلقیح، تلقیح با قارچ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترارادیسز، گلوموس موسه‌آ+ گلوموس اینترادیسیز+باکتری ریزوبیوم تریفولی، ریزوبیوم تریفولی، قارچ گلوموس اینترارادیسز+باکتری ریزوبیوم تریفولی و قارچ گلوموس موسه‌آ+ریزوبیوم تریفولی.

B, I, M, MI, MIT, T, IT, and MT showed no inoculation, inoculation with Glomus intraradices, Glomus mosseae, Glomus mosseae + Glomus intraradices, Glomus mosseae + Glomus intraradices + Rhizobium trifolii, Rhizobium trifolii, Glomus intraradices + Rhizobium trifolii, and Glomus mosseae + Rhizobium trifolii, respectively.

منابع

1. Abdollahi S., and Golchin A. 2018. Biomass Production and Cadmium Accumulation and Translocation in Three Varieties of Cabbage 49(2): 243-259. (In Persian with English abstract)
2. Adewole M.B., Awotoye O.O., Ohiembor M.O., and Salami A.O. 2010. Influence of mycorrhizal fungi on phytoremediating potential and yield of sunflower in Cd and Pb polluted soils. Journal of Agricultural Sciences 55(1): 17-28.
3. Ahmad F., Ahmad I., and Khan M.S. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiological Research 163(2): 173-181.
4. Andrade S.A.L., Abreu C.A., de-Abreu M.F., and Silveria A.P.D. 2004. Influence of lead analysis of the FOREGS Geochemical database. Geoderma 148: 184-199.
5. Becerril F.R., Calantzis C., Turnau K., Caussanel J.P., Belimov A.A., Gianinazzi S., Strasser R.J., and Pearson V.G. 2002. Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. Journal of Experimental Botany 53(371):1177-1185.
6. Bíró I., and Takács T. 2007. Effects of Glomus mosseae strains of different origin on plant macro-and micronutrient uptake in Cd-polluted and unpolluted soils. Acta Agronomica Hungarica 55(2): 183-192.
7. Bradley R., and Burt A.J.1982.The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. The role of mycorrhizal infection in heavy metal resistance. New Phytologist 91(2):197-209.
8. Caris C., Hördt W., Hawkins H.J., Römheld V., and George E. 1998. Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. Mycorrhiza 8(1): 35-39.
9. Chang A.C., Page A.L., and Bingham F.T. 1981. Chemical composition of wastewater sludge. Journal of Water Pollution Control Federation 53(2):237-243.
10. Clark R.B., and Zeto S.K. 1996. Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. Soil Biology and Biochemistry 28(10-11): 1495-1503.
11. Entry J.A., Cromack Jr.K., Stafford S.G., and Castellano M.A. 1987. The effect of pH and aluminum concentration

on ectomycorrhizal formation in *Abies balsamea*. Canadian Journal of Forest Research 17(8): 865-871.
12. Ernst W.H.O. 1996. Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. Applied Geochemistry 11(1-2): 163-167.
13. Estefan G., Sommer R., and Ryan J. 2013. Methods of soil, plant, and water analysis. A manual for the West Asia and North Africa Region 170-176.
14. Gildon A., and Tinker P.B. 1981. A heavy metal-tolerant strain of mycorrhizal fungus. Transactions of the British Mycological Society 77: 648-649.
15. Giovannetti M., and Mosse B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist 489-500.
16. Janouskova M., Pavlikova D., Macek T., and Vosatka M. 2005. Influence of arbuscular mycorrhiza on the growth and cadmium uptake of tobacco with inserted metallothionein gene. Applied Soil Ecology 29(3): 209-214.
17. Joner E.J., and Leyval C. 1997. Uptake of 109 Cd by roots and hyphae of a Glomus mosseae, Trifolium subterraneum mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. New Phytologist 135(2): 353-360.
18. Kabata-Pendias A. 2001. Trace elements in soils and plants. CRC Press Inc.: Boca Raton, Fl.
19. Kabata-Pendias A., and Pendias H. 1992. Trace elements in soils and plants. Trace elements in soils and plants.
20. Lagerwerff J.V., Biersdorf G.T., Milberg R.P., and Brower D.L. 1977. Effects of Incubation and Liming on Yield and Heavy Metal Uptake by Rye from Sewage-Sludged Soil. Journal of Environmental Quality 6(4): 427-431.
21. Li X., and Feng L. 2010. Spatial distribution of hazardous elements in urban topsoils surrounding Xi’an industrial areas, (NW, China): controlling factors and contamination assessments. Journal of Hazardous Materials 174(1-3): 662-669.
22. Lugtenberg B., and Kamilova F. 2009. Plant growth promoting rhizobacteria. Annual Review Microbiology 63: 541-56.
23. Malakoti M.J., and Homaei M. 2005. Fertility of arid and semi-arid soils (problems and solutions). Second Edition, Tarbiat Modares University Press. Tehran. Iran. (In Persian with English abstract)
24. McLaughlin M.J., Smolders E., Merckx R., and Maes A. 1997. Plant uptake of Cd and Zn in chelator-buffered nutrient solution depends on ligand type. In Plant nutrition for sustainable food production and environment. pp. 113-118. Springer, Dordrecht.
25. Mirsal I. 2008. Soil pollution: origin, monitoring and remediation. Springer Science and Business Media.
26. Mobin M., and Khan N.A. 2007. Photosynthetic activity pigment composition and antioxidative response of two mustard cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. Journal of Plant Physiology 164: 601-61.
27. Moradi S., Besharati H., Feizi Asl V., and Sheikhi J. 2017. Effects of drought stress, arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobium treatments on nutrients concentration of roots, areal parts and soil in chickpea cultivation. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 8(2): 13-25. (In Persian with English abstract)
28. Morton-Bermea O., Hernández-Álvarez E., González-Hernández G., Romero F., Lozano R., and Beramendi-Orosco L.E. 2009. Assessment of heavy metal pollution in urban topsoils from the metropolitan area of Mexico City. Journal of Geochemical Exploration 101(3): 218-224.
29. Naderi M., and Naderi Z. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria and their role in remediation of heavy metal contaminated soils. Journal of Human and Environment 32: 33-46. (In Persian with English abstract)
30. Page A.L., Miller R.H., and Keeney D.R. 1982. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy. In Soil Science Society of America 1159: 1-15.
31. Rasouli-Sadaghiani M., Khodaverdiloo H., Barin M., and Kazemalilou S. 2015. Influence of PGPR Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and some Physiological Parameters of Onopordon acanthium in a Cd-Contaminated Soil. Journal of Water and Soil 30(2): 542-554. (In Persian with English abstract)
32. Reichman S.M. 2007. The potential use of the legume–rhizobium symbiosis for the remediation of arsenic contaminated sites. Soil Biology and Biochemistry 39(10): 2587-2593.
33. Sandalio L.M., Dalurzo H.C., Gomez M., Romero-Puertas M.C., and Del Rio L.A. 2001. Cadmium‐induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. Journal of Experimental Botany 52(364): 2115-2126.
34. Shahbaz M., Hashmi M.Z., Malik R.N., and Yasmin A. 2013. Relationship between heavy metals concentrations in egret species, their environment and food chain differences from two Headworks of Pakistan. Chemosphere 93(2): 274-282.
35. Sharma A.K., and Johri B.N. 2002. Arbuscular mycorrhizae: interactions in plants, rhizosphere and soils. Enfield, NH; Plymouth: Science Publishers.
36. Shirazi S.S., Ronaghi A., Karimian N., Yasrebi J., and Emam Y. 2012. Influence of cadmium toxicity on nitrogen and phosphorus uptake and some vegetative growth parameters in shoot of seven rice cultivars. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 3(9): 107-118.
37. Taji H., and Golchin A. 2011. Effect of different levels of cadmium and sulfur on yield, cadmium concentration

and micronutrients of corn (*Zea mays* L.) leaves and roots under greenhouse conditions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 1(4): 23-33. (In Persian with English abstract)
38. Tarafdar J.C., and Marschner H. 1994. Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of VA mycorrhizal wheat supplied with inorganic and organic phosphorus. Soil Biology and Biochemistry 26(3): 387-395.
39. Vierheilig H. 2004. Further root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in already mycorrhizal plants is suppressed after a critical level of root colonization. Journal of Plant Physiology 161(3): 339-341.
40. Wallace A., and Wallace G.A. 1986. Effects of Soil Conditioners on Emergence and Growth of Tomato, Cotton, and Lettuce Seedlings. Journal of Soil Science 141(5): 313-316.
41. Weissen horn I., Mench M., and Leyval C. 1995. Bioavailability of heavy metals and arbuscular mycorrhiza in a sewage sludge amended sandy soil. Soil Biology and Biochemistry 27(3): 287-296.
42. Weissenhorn I., Leyval C., Belgy G., and Berthelin J. 1995. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. Mycorrhiza 5(4): 245-311.
43. Younesi O., Poustini K., Chaichi M.R., and Pourbabaie A.A. 2012. Effect of growth promoting Rhizobacteria on germination and early growth of two alfalfa cultivars under salinity stress condition. Journal of Crops Improvement 14(2): 83-97. (In Persian with English abstract)
44. Zhu Y.G., Christie P., and Laidlaw A.S. 2001. Uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal White clover from Zn-contaminated soil. Chemosphere 42: 193-199.
45. Zimdahl R.L. 1976. Entry and movement in vegetation of lead derived from air and soil sources. Journal of the Air Pollution Control Association 26(7): 655-660.

Journal of Water and Soil
Vol. 35, No. 1, March-April 2021, p. 1-18

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۱، فروردین – اردیبهشت ۱۴۰۰، ص. ۱۸-۱

The Response of Berseem Clover to Inoculation of *Rhizobium trifolii* and Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Cadmium Contaminated Soils

L. Qasemifar[1]- A. Golchin[2*]- F. Rakhsh[3]

Received: 15-04-2019
Accepted: 29-11-2020

Introduction: The accumulation of heavy metals in water, sediments, and soils has led to serious environmental problems. In recent years, several processes have been developed with the aim of reducing or recovering heavy metals from contaminated environments. Physical and chemical approaches are capable of removing a broad spectrum of contaminants, but the main disadvantages of these methods lie in the increased energy consumption and the need for additional chemicals. In recent years, the processes such as bioleaching, biosorption, bioremediation, phytoremediation, and bio precipitation are all based on the use of microorganisms that have the ability to solubilize, adsorb, or precipitate heavy metals. Therefore, it is necessary to find some solutions to reduce the negative effects of heavy metals in soil.

Materials and Methods: A factorial experiment was conducted in the greenhouse of the Faculty of Agriculture, the University of Zanjan, using a completely randomized design with three replications. In this experiment, the effects of different levels of soil cadmium (0, 5, 10, 25, and 50 mg/Kg) and soil inoculation (without inoculation and inoculation with *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* + *Rhizobium trifolii*, *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii* bacterium, *Rhizobium trifolii*, *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* and *Glomus mosseae* + *Glomus intraradices* + *Rhizobium trifolii*) on growth of berseem clover were assessed.

Results and Discussion: The results of this study showed that the soil cadmium levels has a significant effect ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) on fresh weights of aerial parts and roots, height, number of the plant in the pot, Fe, Zn and Cd concentrations in aerial parts and roots of berseem clover. The fresh weights of aerial parts and roots, height, number of the plant in the pot, Fe and Zn concentrations in aerial parts and roots of berseem clover decreased as the levels of soil cadmium increased. The lowest concentrations of iron and zinc were measured in treatment with 100 mg Cd/Kg. Also, Cd concentration in aerial parts and roots increased as the level of soil cadmium increased. The results of this experiment showed that soil inoculation with mycorrhizal fungi and *Rihzobium trifolii* had a significant effect ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) on fresh weights of aerial parts and roots, height, number of plant per pot, Fe, Zn and Cd concentrations in aerial parts and roots of berseem clover. The inoculation of soil with mycorrhizal fungi and *Rhizobium trifolii* increased the fresh weights of aerial parts and roots, height and No. of plant per pot. The highest fresh weights of aerial parts and roots of berseem clover, height, and number of plant per pot were obtained in treatments co-inoculated with *Glomus mosseae* and *Rhizobium trifolii*. The highest and lowest concentrations of iron and zinc in aerial parts and roots of berseem clover were measured, respectively, for the treatment co-inoculated by *Glomus mosseae* and *Rhizobium trifolii* and control treatment (without inoculation). However, the opposite trends were found in Cd concentrations in the plant. The highest and lowest Cd concentrations in aerial parts and roots were measured in control treatment (without inoculation) and treatment co-inoculated by *Glomus mosseae* and *Rhizobium trifolii* (MT), respectively.

Conclusion: Bioremediation and phytoremediation are considered as two very safe and necessary technologies which naturally occur in the soil by microbes and plants and pose no hazard to the environment and the people life. The procedure of bioremediation and phytoremediation can be simply carried out on site without initiating a major disruption of normal actions and threating the human life and the environment during transportation. Bioremediation and phytoremediation are used less than other technologies for cleaning-up the wastes and contaminated soils. Microorganisms and plants possess inherent biological mechanisms that enable them to survive under heavy metal stress and remove the metals from the environment. These microbes use various processes such as precipitation, biosorption, enzymatic transformation of metals, complexation and phytoremediation techniques of which phytoextraction and phytostabilization have been very effective. However, environmental conditions need to be adequate for effective bioremediation. The use of

1, 2 and 3- M.Sc. Graduate, Professor and Ph.D. Graduate, Department of Soil Science, University of Zanjan, respectively.
(*- Corresponding Author Email: agolchin2011@yahoo.com)
DOI: 10.22067/jsw.2021.14772.0

hyperaccumulator plants to remediate contaminated sites depends on the quantity of metal at that site and the type of soil. The results of this experiment showed that the *Rhizobium trifolii* and *Glomus mosseae* could be used to reduce the soil cadmium contamination. Also, the berseem clover is a hyperaccumulator plant for phytoremediation of cadmium in soils. According to the results of this study, co-inoculation of mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and *Rhizobium trifolii* can be recommended to improve the yield and uptake of micronutrients such as iron and zinc in cadmium contaminated soils.

Keywords: Heavy metal, Microorganism, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices*, Pollution